

# HUBUNGAN JUMLAH IKATAN DISULFIDA DAN KADAR PROTEIN DENGAN SIFAT MEKANIK EDIBLE FILM DARI TEPUNG BIJI KECIPIR RENDAH LEMAK

## *Mechanical Properties of Edible Film from Defatted Winged Flour at Various Levels of Disulfide Levels and Protein Content*

Setyo Hastuti<sup>1</sup>, Zuheid Noor<sup>2</sup> dan Umar Santoso<sup>2</sup>

*Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan  
Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada*

### ABSTRACT

To study the properties of edible films made from defatted winged bean flour, various combination of defatted winged bean flour suspension (8 %, 10 % and 12 %), pH (pH 3, 6 and 9), with and without heating (80°C for 25 min) were used. Prior to casting, concentration of disulfide bonds (S-S) were determined and increased with flour concentration, pH and heating ( $p \leq 0,01$ ) (0,48 - 2,21  $\mu\text{M}$  S-S/ g protein), presumably due to protein denaturation and disulfide bond formation. Concentration of disulfide bonds correlated ( $p \leq 0,01$ ) with film tensile strength ( $r = 0,882$ ) and elongation at break ( $r = 0,962$ ), while the protein content did not affect those mechanical properties. Most likely, disulfide bonds were formed by air oxidation and/or sulfhydryl/disulfide and thiol/disulfide interchanges, during defatted winged bean flour film formation.

**Keywords:** *edible film -- disulfide bond -- mechanical properties -- deffated winged bean flour*

### PENGANTAR

Pengemas bahan makanan berfungsi untuk mempertahankan kualitas produk yang dikemas serta memperpanjang umur simpannya. Pengemas yang banyak digunakan sekarang ini sebagian besar dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, khususnya apabila dibuat dari bahan yang tidak dapat didaur ulang atau sulit mengalami biodegradasi, seperti plastik. Untuk meminimalkan pencemaran lingkungan, dapat digunakan pengemas alternatif yang tidak menimbulkan masalah bagi lingkungan, yaitu *edible film*.

1) Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Stiper, Yogyakarta

2) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Edible film* secara umum dapat didefinisikan sebagai lapisan tipis yang dibuat dari bahan-bahan yang layak untuk dimakan, yang dilapisan pada permukaan bahan yang dikemas. *Edible film* telah banyak dibuat dari bahan-bahan polimer, seperti lemak, protein atau polisakarida atau kombinasinya. Protein sebagai agensia pembentuk *edible film* belum banyak dipelajari, jika dibandingkan dengan lemak dan polisakarida. Beberapa sumber protein seperti kasein, gelatin, zein dan gluten sudah banyak digunakan, tetapi dari kacang-kacangan baru sebatas protein kedelai dan protein kacang tanah. Kacang-kacangan alternatif yang bisa digunakan sebagai bahan dasar pembuatan *edible film* adalah biji kecipir.

Biji kecipir merupakan sumber protein nabati yang potensial karena kandungan protein dan asam amino esensialnya setara dengan kedelai dan budidayanya yang mudah. Menurut Sri-Kuntjyati (1992), produksi biji kecipir mencapai 2 - 4 ton/ha (sampai umur 10 bulan), lebih tinggi daripada kedelai yang hanya 0,5 - 1,0 ton/ha (sampai umur 3 bulan). Kandungan asam amino sulfur biji kecipir lebih tinggi daripada kedelai, yaitu masing-masing 1,6 - 2,6 g dan 1,2 g/100 g protein untuk biji kecipir dan 1,2 dan 1,1 g/100 g protein untuk kedelai (Cerny, 1978). Meskipun biji kecipir berpotensi untuk menggantikan kedelai, sampai saat ini pemanfaatannya masih sangat terbatas, karena memiliki bau langu yang sangat kuat, yang disebabkan oleh asam lemak tidak jenuh terutama linoleat yang dikatalisa oleh enzim lipoksigenase. Salah satu cara untuk menghilangkan bau langu tersebut dengan cara mengurangi minyak bahan semaksimal mungkin.

Proses ekstraksi minyak pada biji kecipir disamping untuk mengurangi bau langu juga berpengaruh relatif terhadap kadar protein serta asam amino sulfurnya. Sedangkan jika dibandingkan dengan isolat protein kedelai (yang banyak digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan *edible film*), asam amino sulfur (sistin dan sistein) pada tepung biji kecipir rendah lemak lebih tinggi yaitu 2,37 g/16 g N untuk tepung biji kecipir rendah lemak dan 2,30 g/16 g N untuk isolat protein kedelai. Keberadaan asam amino sulfur ini akan membantu pembentukan *film* dengan membentuk ikatan disulfida. Ikatan disulfida ini memberi kontribusi yang besar terhadap stabilitas *edible film* yang terbentuk.

Ikatan disulfida dianggap berperan penting dalam pembentukan jaringan *film* yang dibuat dari bahan berprotein yang mengandung asam amino sistin atau sistein (Gennadios *et al.*, 1994). Menurut Roy *et al.* (1999) mekanisme pembentukan *film* dari gluten gandum adalah sebagai berikut: Pemanasan larutan *film* pada kondisi alkali akan mendenaturasi

protein gluten gandum, mereduksi ikatan disulfida (S-S) yang ada dan mengekspos gugus SH (sulfhidril). Selama pengeringan larutan *film*, ikatan kovalen S-S terbentuk oleh adanya ikatan silang molekul protein yang diakibatkan oksidasi udara. Disamping pembentukan ikatan S-S dari gugus SH bebas, reaksi yang mempengaruhi pembentukan *film* dari gluten gandum adalah reaksi pertukaran sulfhidril - disulfida, disulfida - disulfida dan thiol-disulfida. Reaksi-reaksi tersebut dianggap yang berperan dalam pembentukan ikatan silang antarmolekul dan menghasilkan struktur dengan berat molekul yang tinggi (Kasarda *et al.*, 1971 dalam Gennadios dan Weller, 1990). Mekanisme pembentukan *film* yang melibatkan ikatan S-S tersebut juga berlaku bagi protein kedelai (Gennadios dan Weller, 1991 dalam Roy *et al.*, 1999), isolat protein kedelai (McHugh *et al.*, 1994) dan isolat protein whey (Gennadios *et al.*, 1996) dan kemungkinan juga untuk *film* dari susu kecipir, karena menurut Sian dan Ishak (1990) pada saat pH larutan *film* dinaikkan di atas 6,7, pembentukan *film* menjadi lebih mudah yang diakibatkan oleh tereksposnya gugus sulfhidril dan gugus hidrofobik. Dengan tereksposnya kedua gugus tersebut akan memungkinkan pembentukan interaksi antar rantai protein, yaitu ikatan kovalen disulfida dan ikatan hidrofobik

Ikatan disulfida juga berperan dalam menentukan sifat-sifat fisik *edible film* yang dihasilkan. Handa *et al.* (1999) yang meneliti pengaruh gugus SH permukaan terhadap sifat-sifat mekanik *film* dari putih telur menunjukkan bahwa ada korelasi positif antara gugus SH permukaan dengan kekuatan renggang putus *film* ( $r = 0,70$ ) dan perpanjangan *film* ( $r = 0,86$ ). Sifat mekanik ini menunjukkan kekuatan *edible film* atau mudah tidaknya *edible film* mengalami kerusakan selama melalui tahapan proses pengolahan bahan makanan yang dikemasnya, karena *edible film* harus dapat dipertahankan keutuhannya selama pemrosesan bahan yang dikemasnya, pengapalan, maupun penanganan selanjutnya. Untuk menguji kemampuannya, harus dilakukan evaluasi terhadap sifat-sifat mekaniknya yang meliputi kekuatan renggang putus dan perpanjangan (Stuchell dan Krochta, 1994).

Adapun tujuan penelitian ini adalah menentukan sifat-sifat mekanik *film* dari tepung biji kecipir rendah lemak dan menghubungkannya dengan jumlah ikatan disulfida yang terbentuk dan kadar protein *film*.

## CARA PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kecipir yang diperoleh dari Toko Subur, Jl. R.E. Martadinata, Yogyakarta. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah...

heksan teknis dan etanol teknis yang diperoleh dari UD Organik, gliserin serta NaOH dan HCl. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisa yang meliputi octanol, EDTA 2 Na, Natrium borohidrid serta 5,5'-dithiobis (2 nitro benzoic acid) dari Sigma Co.

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 3 perlakuan, yaitu konsentrasi tepung biji kecipir rendah lemak (3 taraf), pH (3 taraf) dan suhu (2 taraf). Data dari masing-masing pengamatan dianalisa statistik dengan analisa varian dan apabila ada perbedaan di antara perlakuan dilanjutkan dengan uji beda nyata dengan menggunakan Scheffe *multiple comparison t-test*. Untuk analisis korelasi antara jumlah ikatan disulfida dan kadar protein digunakan analisis regresi linier sederhana maupun berganda (Gomez dan Gomez, 1995).

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium PAU Pangan dan Gizi UGM dari bulan Oktober 1998 sampai bulan September 1999 dalam dua tahap, yaitu tahap pembuatan tepung biji kecipir rendah lemak dan tahap pembuatan *edible film* yang merupakan penelitian utama.

**Tahap Penyiapan Bahan.** Tahap ini bertujuan untuk mendapatkan tepung biji kecipir rendah lemak. Proses pembuatannya mengacu pada Okezie dan Bello (1988) yang dimodifikasi.

Proses ini dimulai dengan perendaman biji kecipir selama 12 jam, kemudian biji dikupas untuk memisahkan kulit arinya. Biji kecipir kupas tersebut kemudian ditiriskan dan dikeringkan menggunakan pengering kabinet dengan suhu 30°C selama 48 jam. Setelah kering digiling dengan blender kering dan diayak dengan ayakan 100 mesh.

Tepung biji kecipir tersebut diekstraksi minyaknya dengan pelarut campuran heksan dan etanol (4:1 v/v) dengan perbandingan bahan dan pelarut sebesar 1: 4 (b/v) dengan cara perkolasi dan dekantasi. Tepung biji kecipir rendah lemak yang dihasilkan dikering-anginkan untuk menguapkan pelarut dan mencapai kadar air yang setimbang. Tepung yang bersifat kompak tersebut dihancurkan dengan mortir, kemudian ditempatkan dalam wadah gelas yang tertutup, sebelum dipakai untuk keperluan selanjutnya.

**Tahap Pembuatan Edible Film (Penelitian Utama).** Proses pembuatan *edible film* mengacu pada Gennadios *et al.* (1993) yang dimodifikasi. Pembuatan *edible film* dimulai dengan mensuspensikan tepung biji kecipir rendah lemak dalam aquades dengan 3 variasi konsentrasi tepung biji kecipir rendah lemak, yaitu 8 %, 10 % dan 12 % (b/v) atau konsentrasi protein kecipir  $\pm 4$  %,  $\pm 5$  % dan  $\pm 6$  % (b/v). Kemudian setelah tercampur ditambahkan elektrolit...

60 % (b/b) dari tepung biji kecipir rendah lemak. Penambahan gliserin sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya dilakukan pengaturan pH dengan menggunakan larutan HCl 1 N atau NaOH 1 N untuk mendapatkan pH 3, 6 dan 9. Penambahan larutan tersebut dilakukan secara bertahap agar peningkatan atau penurunan pH terjadi secara bertahap pula. Kemudian larutan yang mempunyai pH tertentu tersebut langsung dilakukan pencetakan (untuk perlakuan suhu kamar) atau dipanaskan dengan menggunakan *hotplate* pada suhu 80°C selama 25 menit sambil dilakukan pengadukan, kemudian dicetak (untuk perlakuan suhu 80°C). Pencetakan dilakukan dengan cara menuang 20 ml larutan *film* ke dalam plat plastik dengan ukuran 11,2 x 15,3 cm. Pengeringan *film* dilakukan dengan menggunakan pengering kabinet dengan suhu 40°C selama 24 jam. *Edible film* yang dihasilkan dilepaskan dari plat plastik, kemudian disimpan selama 2 hari pada suhu kamar sebelum dilakukan analisa sifat-sifat mekanik dan kadar proteinnya. Analisa ikatan disulfida dilakukan pada larutan *film* yang telah didinginkan.

**Analisis Hasil.** Analisis sifat-sifat mekanik *edible film* meliputi kekuatan renggang putus dan perpanjangan *film* menggunakan Lloyd Instrument. Sedangkan analisis kimia *edible film* meliputi ikatan disulfida (Vigdorth dan Ball Jr., 1988; Beveridge *et al.*, 1974) dan kadar protein dengan Mikro-Kjeldahl (AOAC, 1970 dalam Slamet-Sudarmadji dkk., 1984)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembentukan Edible Film

Dari hasil kombinasi perlakuan konsentrasi TBK rendah lemak, pH dan suhu larutan *film* pada pembuatan *edible film*, ada *film* yang tidak terbentuk. *Film* yang tidak jadi tersebut dibuat dari larutan pH 6 dan suhu kamar, untuk konsentrasi 8 % dan 10 % dan hasilnya hanya berbentuk serpihan-serpihan. Hal ini disebabkan oleh pH larutan *film* yang mendekati titik isoelektris (Sian dan Ishak, 1990). Selain itu, jika pembuatan *film* tanpa disertai dengan pemanasan, *film* akan retak-retak karena sedikitnya interaksi intermolekuler (McHugh *et al.*, 1994). Penelitian Sian dan Ishak (1990) yang memvariasikan pH larutan *film* dalam pembentukan *edible film* dari susu kecipir menunjukkan bahwa mulai terbentuk *film* pada konsentrasi susu kecipir 10 % (b/v) dan pada kisaran pH 2,3 - 3,0 dan 6,3 - 11,0 yang disertai pemanasan pada

sifat-sifatnya, yaitu pada perlakuan konsentrasi 8 %, pH 3 dan suhu kamar, serta *film* yang tidak dapat diukur kekuatan renggang putusnya, yaitu *film* dibuat dari larutan pada konsentrasi tepung 8 %, pH 6 dan suhu 80°C karena terlalu tipis dan rapuh, sehingga sulit dilepas dari plat pencetak dan tidak memenuhi luas area yang dibutuhkan untuk pengujian.

Adapun kenampakan *film-film* yang terbentuk dan dapat diukur sifat-sifat fisiknya, keruh. Kekeruhan ini disebabkan oleh adanya komponen yang tidak larut, misalnya karbohidrat. Menurut Okezie dan Bello (1988) kandungan karbohidrat pada TBK rendah lemak sebesar 41,31 %. Sedangkan perlakuan pemanasan pada suhu 80°C dapat menghasilkan *film* yang lebih transparan daripada *film* tanpa pemanasan. Hal ini disebabkan pemanasan larutan *film* dapat mendenaturasi protein, yang dapat mengakibatkan peningkatan interaksi dan mengurangi mobilitas rantai polimer (Stuchell dan Krochta, 1994).

Tabel 1. Jumlah ikatan disulfida dan kadar protein *film* pada berbagai perlakuan konsentrasi tepung biji kecipir rendah lemak, pH dan suhu larutan *film*

Konsentrasi	pH	Suhu	Ikatan disulfida ( $\mu\text{M S-S/g prot}$ *)	Kadar protein (% bk)*)
8 %	3	Kamar	0,59 <sup>ab</sup>	34,68 <sup>a</sup>
		80°C	0,71 <sup>b</sup>	34,58 <sup>a</sup>
	6	Kamar	0,48 <sup>a</sup>	34,55 <sup>a</sup>
		80°C	0,61 <sup>ab</sup>	35,38 <sup>a</sup>
	9	Kamar	1,00 <sup>d</sup>	34,78 <sup>a</sup>
		80°C	1,52 <sup>ef</sup>	33,47 <sup>a</sup>
10 %	3	Kamar	0,78 <sup>bc</sup>	36,96 <sup>b</sup>
		80°C	1,04 <sup>d</sup>	36,58 <sup>b</sup>
	6	Kamar	0,56 <sup>ab</sup>	35,53 <sup>b</sup>
		80°C	0,96 <sup>cd</sup>	35,93 <sup>b</sup>
	9	Kamar	1,41 <sup>e</sup>	35,77 <sup>b</sup>
		80°C	1,73 <sup>g</sup>	36,13 <sup>b</sup>
12 %	3	Kamar	0,94 <sup>cd</sup>	37,61 <sup>c</sup>
		80°C	0,99 <sup>d</sup>	38,74 <sup>c</sup>
	6	Kamar	0,79 <sup>bc</sup>	38,39 <sup>c</sup>
		80°C	0,93 <sup>cd</sup>	38,99 <sup>c</sup>
	9	Kamar	1,67 <sup>fg</sup>	37,62 <sup>c</sup>
		80°C	2,11 <sup>h</sup>	37,11 <sup>c</sup>

### Pengaruh Konsentrasi Tepung Biji Kecipir Rendah Lemak, pH dan Suhu terhadap Jumlah Ikatan Disulfida dan Kadar Protein

Hasil analisis jumlah ikatan disulfida dan kadar protein *film* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Jumlah Ikatan Disulfida.** Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *film* yang tidak terbentuk maupun *film* yang tidak dapat dianalisis sifat-sifat fisiknya kecuali ketebalan, mempunyai ikatan disulfida dengan konsentrasi yang tidak berbeda nyata, yaitu pada kisaran 0,48 - 0,61  $\mu\text{M S-S/g}$  protein dan jumlah ini merupakan angka yang terendah dibandingkan hasil dari perlakuan yang lainnya. Hal ini disebabkan pH 6 mendekati titik isoelektris protein kecipir dan suhu kamar tidak mendenaturasi protein kecipir, sehingga kecil kemungkinan terjadi interaksi antar rantai molekul protein. Oleh karenanya, pada konsentrasi TBK rendah lemak 8 dan 10 % atau konsentrasi proteinnya masing-masing  $\pm 4\%$  dan  $\pm 5\%$  tidak terbentuk *film*. Adapun perlakuan pH 3 dan suhu kamar serta pH 6 dan suhu 80°C dapat membentuk *film*, tetapi untuk konsentrasi TBK rendah lemak sebesar 8 % yang hanya menyediakan protein sebesar  $\pm 4\%$ , pembentukan *film*-nya tidak sempurna. *Film* yang dihasilkan mempunyai luas area yang kecil karena asam amino sistein maupun sistinnya dalam jumlah yang minimal dan kondisinya tidak memungkinkan pembentukan ikatan disulfida dalam jumlah banyak.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa jumlah ikatan disulfida dipengaruhi oleh konsentrasi TBK rendah lemak, variasi pH dan suhu larutan *film* ( $p < 0,01$ ). Konsentrasi TBK rendah lemak yang lebih tinggi, pH 9 serta pemanasan larutan *film* akan meningkatkan jumlah ikatan disulfida. Peningkatan konsentrasi TBK rendah lemak sebesar 2 % akan meningkatkan jumlah ikatan disulfida sebesar 0,09 - 0,38  $\mu\text{M S-S/g}$  protein, meskipun ada beberapa yang tidak berbeda nyata. Ini dikarenakan konsentrasi TBK rendah lemak yang lebih tinggi akan menyediakan asam amino sistein dan sistin yang lebih banyak. Asam amino ini yang berperan dalam pembentukan ikatan disulfida.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa jumlah ikatan disulfida pada pH 9 lebih besar daripada pH 3 maupun pH 6. Hal ini disebabkan pada pH alkali akan dapat menghidrolisis ikatan disulfida yang diikuti dengan pembentukan gugus SH permukaan. Gugus SH ini akan membentuk ikatan disulfida kembali melalui oksidasi oleh udara dan/atau reaksi pertukaran SH dan SS (Shimada dan Cheftel, 1989). Peran perlakuan pH terhadap pembentukan ikatan disulfida ditunjukkan oleh

oleh Handa *et al.* (1999). Hasil penelitian Handa *et al.* (1999) yang mengukur konsentrasi gugus SH permukaan dengan perlakuan variasi pH dan suhu larutan *film*, menunjukkan bahwa gugus SH ini meningkat dengan meningkatnya pH.

Pemanasan pada suhu 80°C selama 25 menit akan meningkatkan jumlah ikatan disulfida sebesar 0,05 - 0,54  $\mu\text{M}$  S-S/ g protein. Hal ini disebabkan pemanasan dapat mendenaturasi rantai protein, yaitu mengubah konformasi protein yang terlipat menjadi rantai yang terbuka, sehingga dapat mengekspos gugus SH. Gugus SH tersebut selanjutnya akan membentuk ikatan disulfida antar rantai protein. Hal yang sama ditunjukkan oleh hasil penelitian Handa *et al.*, (1999), yaitu larutan *film* yang dipanaskan pada suhu 40°C selama 30 menit mempunyai gugus SH permukaan dengan konsentrasi yang lebih tinggi daripada yang tanpa pemanasan ( $p < 0,05$ ).

Pengaruh kombinasi perlakuan terhadap pembentukan ikatan disulfida dapat dilihat pada Tabel 1. Pada tabel tersebut juga dapat dilihat bahwa jumlah ikatan disulfida yang terbesar adalah 2,11  $\mu\text{M}$ /g protein yang diperoleh dari kombinasi perlakuan konsentrasi TBK rendah lemak 12 %, pH 9 dan suhu 80°C, karena menurut Handa *et al.*, (1999) pada kondisi alkali yang disertai dengan pemanasan akan mengekspos gugus SH, sehingga memungkinkan terbentuknya ikatan disulfida antar molekul protein.

**Kadar Protein.** Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar protein *film* hanya dipengaruhi oleh konsentrasi TBK rendah lemak dan tidak dipengaruhi oleh pH dan suhu larutan *film*. Kadar protein *film* berkisar antara 33,47 % - 38,99 % (bk), lebih kecil daripada kadar protein TBK rendah lemak yang sebesar 50,57 % (bk). Penurunan ini disebabkan dalam pembuatan *edible film* ditambah *plasticizer* yaitu gliserin sebesar 60 % dari berat TBK rendah lemak yang digunakan.

Perlakuan pH tidak berpengaruh terhadap kadar protein karena tidak adanya pemisahan protein yang terlarut maupun yang tidak terlarut setelah pengaturan pH dilakukan, sehingga semua protein masih terikat dalam *film* yang dihasilkan. Sedangkan perlakuan suhu tidak berpengaruh disebabkan suhu 80°C hanya dapat mendenaturasi protein kecipir, tidak mampu menghidrolisis protein kecipir, sehingga protein dalam *film* jumlahnya relatif tetap.

Adanya protein *film* ini kemungkinan ikut berperan dalam terbentuknya interaksi protein-protein yang terjadi selama pembentukan *edible film*, antara lain ikatan disulfida, yaitu dalam penyediaan asam amino sistein maupun sistin. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1, yaitu pada kondisi (pH dan suhu) larutan *film* yang sama, jumlah ikatan disulfida meningkat dengan meningkatnya kadar protein.

### Pengaruh Konsentrasi Tepung Biji Kecipir Rendah Lemak, pH dan Suhu terhadap Sifat-sifat Mekanik.

Hasil analisis sifat-sifat mekanik yang meliputi perpanjangan dan kekuatan renggang putus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Perpanjangan dan kekuatan renggang putus *film* pada berbagai perlakuan konsentrasi tepung biji kecipir rendah lemak, pH dan suhu larutan *film*

Konsentrasi	pH	Suhu	Perpanjangan (%) *)	Kekuatan renggang putus (Pa*)
8 %	3	Kamar	-	-
		80°C	4,55 bc	1746,67 a
	6	Kamar	-	-
		80°C	2,77 a	-
10 %	9	Kamar	11,83 e	3138,33 bc
		80°C	15,10 f	5194,45 e
	3	Kamar	3,32 ab	1310,00 a
		80°C	4,93 bc	4257,00 d
12 %	6	Kamar	-	-
		80°C	4,65 b	1401,67 a
	9	Kamar	12,55 e	3384,17 c
		80°C	19,22 g	7571,67 f
	3	Kamar	4,65 b	3790,89 c
		80°C	8,24 d	4675,56 d
	6	Kamar	4,22 ab	2620,00 b
		80°C	6,34 c	3056,67 bc
	9	Kamar	17,27 f	4694,44 d
		80°C	27,55 h	10558,34 g

(-) = film tidak berbentuk

\*) = Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata

Pada tabel tersebut terlihat bahwa perpanjangan maupun kekuatan renggang putus menunjukkan kecenderungan yang sama, yaitu tertinggi pada pH alkali untuk perlakuan konsentrasi TBK rendah lemak dan suhu larutan *film* yang sama, serta lebih tinggi pada *film* yang pada pembuatannya dilakukan pemanasan 80°C untuk konsentrasi TBK rendah lemak dan pH yang sama, meskipun ada beberapa yang tidak berbeda nyata.

**Perpanjangan.** Menurut Gennadios *et al.* (1993) perpanjangan ditentukan dari titik dimana *film* sobek pada saat penarikan. Pertambahan panjang sampai sobeknya *film* ini yang ditunjukkan sebagai perpanjangan. Dari hasil penelitian ini pada Tabel 2, dapat dilihat bahwa



pengaruh terbesar terhadap perpanjangan *film* dengan bahan dasar TBK rendah lemak diberikan oleh perlakuan pH, yang kemudian diikuti oleh suhu dan konsentrasi TBK rendah lemak. Pada larutan *film* dengan pH 9, prosentase perpanjangan terbesar, yaitu 11,83 - 27,55 %, yang besarnya 3,4 - 5,6 kali jika dibandingkan dengan pH 6. Kenaikan perpanjangan diasumsikan karena adanya interaksi protein-protein dan pH 9 tersebut jauh dari titik isoelektris. Adanya interaksi antar rantai protein ini menyebabkan *film* lebih kuat dan elastis, sehingga pada saat penarikan tidak mudah putus. Sebaliknya, pada pH 6 yang mendekati titik isoelektris, interaksi protein-protein yang terjadi lebih sedikit dan menjadikan *film* lebih tidak elastis (rapuh).

Hasil yang sama ditunjukkan oleh penelitian Gennadios *et al.* (1993) yang membuat *film* dari isolat protein kedelai, yaitu perpanjangan terbesar diperoleh pada perlakuan pH 9 - 11, dan yang terendah pada kisaran isoelektris protein kedelai (pH 4,5) yaitu pada perlakuan pH 3.

Pemanasan pada suhu 80°C akan menambah prosentase perpanjangan 27 - 53 % dari larutan *film* tanpa pemanasan. Pemanasan akan menyebabkan protein terdenaturasi, sehingga rantai polipeptida akan terbuka dan gugus sulfhidril akan terekspos keluar. Hal ini lebih memungkinkan terjadinya interaksi inter maupun antar molekul protein melalui oksidasi oleh udara atau reaksi pertukaran SH dan SS, sehingga *film* menjadi lebih elastis, sehingga pada saat penarikan, tidak mudah sobek/putus.

Kenaikan konsentrasi TBK rendah lemak (pada kondisi pH dan suhu yang sama) akan meningkatkan prosentase perpanjangan berkisar antara 6 - 37 %. Pada konsentrasi tepung 12 % akan menghasilkan kadar protein *film* yang terbesar, yang berarti pula asam amino sulfurnya lebih banyak, sehingga kemungkinan pembentukan ikatan kovalen disulfida lebih besar dan *film* yang terbentuk lebih elastis.

**Kekuatan Renggang Putus.** Perlakuan konsentrasi TBK rendah lemak, pH dan suhu maupun interaksi pH dan suhu berpengaruh terhadap kekuatan renggang putus *film* yang dihasilkan. Kekuatan renggang putus tertinggi (untuk perlakuan suhu yang sama) diperoleh pada pH 9. Hal ini disebabkan pH alkali dapat menghidrolisis ikatan disulfida intramolekuler, sehingga membentuk gugus SH permukaan yang selanjutnya selama pencetakan dan pengeringan *film* terjadi oksidasi oleh udara yang membentuk ikatan disulfida antar molekul. Pembentukan ikatan disulfida ini menyebabkan *film* menjadi lebih kuat, sehingga membutuhkan gaya yang lebih besar untuk menyobeknya.

Hasil yang serupa ditunjukkan pada penelitian Gennadios *et al.* (1993), yaitu kekuatan renggang putus *film* yang terendah diperoleh dari pH larutan *film* yang mendekati titik isoelektrisnya, jika dibandingkan dengan perlakuan pH asam maupun alkali, dan kekuatan renggang putusnya mulai meningkat pada saat pH diatur pada kisaran diatas titik isoelektrisnya, yaitu antara pH 8 - 10. Sedangkan hasil penelitian Bradenburg *et al.* (1993) menunjukkan bahwa kekuatan renggang putus dan perpanjangan memperoleh nilai terendah pada pH 6 karena pada pH tersebut protein kedelai tidak larut atau muatannya netral.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pemanasan pada suhu 80°C akan menambah kekuatan renggang putus *film* 1,2 - 3,2 kali dari *film* yang tanpa pemanasan. Hal ini disebabkan pemanasan dapat mengkatalisa interaksi protein-protein, yaitu ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen dan ikatan disulfida. Peningkatan interaksi protein-protein ini dapat menghasilkan struktur dan jaringan protein yang elastis, tidak mudah sobek dan *film* lebih kuat.

Kekuatan renggang putus terbesar didapatkan dari *film* yang dibentuk dari larutan *film* dengan pH 9 dan suhu 80°C sebesar 5149,45 Pa - 10558,34 Pa, karena kemungkinan pada kondisi tersebut ikatan kovalen disulfida yang terbentuk lebih banyak, sehingga *film* lebih elastis. Kondisi alkali dan pemanasan akan mengekspos gugus sulfhidril dari asam amino sulfurnya, sehingga akan lebih memungkinkan terbentuknya ikatan disulfida (Handa *et al.*, 1999).

Dari uraian di atas, dapat disimpulkan bahwa jumlah ikatan disulfida mempengaruhi perpanjangan dan kekuatan renggang putus *film* yang dihasilkan. Jika dikorelasikan dengan jumlah ikatan disulfida, kedua sifat ini menunjukkan adanya korelasi positif, yang berarti bahwa peningkatan jumlah ikatan disulfida akan meningkatkan prosentase perpanjangan maupun kekuatan renggang putusnya atau akan menghasilkan *film* yang lebih kuat. Besarnya koefisien korelasinya masing-masing 0,962 ( $p \leq 0,01$ ) untuk perpanjangan dan 0,882 ( $p \leq 0,01$ ) untuk kekuatan renggang putus. Sedangkan jika gabungan dari jumlah ikatan disulfida dan kadar protein dikorelasikan dengan sifat-sifat mekanik *film*, menunjukkan bahwa ada korelasi linier, yang berarti bahwa perubahan perpanjangan maupun kekuatan renggang putus sangat berkorelasi dengan gabungan jumlah ikatan disulfida dan kadar protein *film*. Korelasi tersebut ditunjukkan dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ), yaitu masing-masing 0,928 dan 0,805.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tersebut di atas pengaturan larutan *film* pada pH 9 maupun pemanasan pada suhu 80°C selama 25 menit dapat memperbaiki sifat-sifat mekanik *film*, yaitu perpanjangan dan kekuatan renggang putusnya karena dapat meningkatkan jumlah ikatan disulfida. Jumlah ikatan disulfida berkorelasi positif dengan sifat-sifat mekanik *film* sedangkan kadar protein tidak berkorelasi dengan sifat-sifat mekanik *film*. Gabungan dari jumlah ikatan disulfida dan kadar protein berkorelasi linier dengan perpanjangan maupun kekuatan renggang putusnya dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) masing-masing 0,928 dan 0,805.

*Film* dari tepung biji kecipir rendah lemak yang memiliki sifat-sifat mekanik yang terbaik diperoleh dari larutan *film* dengan konsentrasi tepung 12 %, serta dikondisikan pada pH 9 dan suhu 80°C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Beveridge, T., S.J. Toma and S. Nakai, 1974, Determination of SH- and SS- Groups in Some Food Proteins Using Ellman's Reagent, *J. Food Sci.* 39 : 49 - 51.
- Bradenburg, A.H., C.L. Weller and R.F. Testin, 1993, Edible Films and Coatings from Soy Protein, *J. Food Sci.* 58(5) : 1086 - 1089.
- Cerny, K. 1978, *Comparative Nutritional and Clinical Aspect of The Winged Bean*, Paper Presented in The 1st International Symposium on Developing The Potentials of Winged Bean, Los Banos, Laguna.
- Gennadios, A. and C.L. Weller, 1990, Edible Films and Coatings from Wheat and Corn Proteins, *Food Tech.* 44(10) : 63 - 69.
- Gennadios, A., A.H. Bradenburger, C.L. Weller and R.F. Testin, 1993, Effect of pH on Properties of Wheat Gluten and Soy Protein Isolate Films, *J. Agric. Food Chem.* 41 : 1835 - 1839.
- Gennadios, A., T.H. McHugh, C.L. Weller and J.M. Krochta, 1994, Edible Coatings and Film Based on Proteins, 1994, dalam Krochta, J.M., E.A. Baldwin and M.O. Nisperos-Carriedo (eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publ. Co. Inc., Lancaster, Basel.
- Gennadios, A., C.L. Weller, M.A. Hanna and G.W. Froning, 1996, Mechanical and Barrier Properties of Egg Albumen Film, *J. Food Sci.* : 585 - 589.
- Gnanasambandam, R., N.S. Hettiarachchy and M. Coleman, 1997, Mechanical and Barrier Properties of Rice Bran Film, *J. Food Sci.* 62(2) : 395 - 398.
- Gomez K.A. dan A.A. Gomez, 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*, Penerjemah Endang S. dan Justika S.B., UI-Press, Jakarta.
- Handa, A., A. Gennadios, G.W. Froning, N. Kuroda and M.A. Hanna, 1999, Tensile, Solubility and Electrophoretic Properties of Egg White Films as Affected by Surface Sulfhydryl Groups, *J. Food Sci.* 64(1) : 82 - 85.
- Jangchud, A. and M.S. Chinnan, 1999, Peanut Protein Film as Affected by Drying Temperature and pH of Film Forming Solution, *J. Food Sci.* 64(1) : 153 - 157.
- McHugh, T.H., J.F. Aujard and J.M. Krochta, 1994, Plasticized Whey Protein Edible Films : Water Vapor Permeabilities Properties, *J. Food Sci.* 59(2) : 416 - 419, 423.
- Okezie, B.O. and A.B. Bello, 1988, Physicochemical and Functional Properties of Winged Bean Flour and Isolate Compared with Soy Isolate, *J. Food Sci.* 53 : 450 - 454.
- Roy, S., C.L. Weller, A. Gennadios, M.G. Zeece and R.F. Testin, 1999, Physical and Molecular Properties of Wheat Gluten Films Cast from Heated Film-Forming Solutions, *J. Food Sci.* 64(1) : 57 - 60.
- Shimada, K. and J.C. Cheftel, 1989, Sulfhydryl Group / Disulfide Bond Interchange Reactions during Heat-Induced Gelation of Whey Protein Isolate, *J. Agric. Food Chem.* 37 : 161 - 168.
- Sian, N.K. and S. Ishak., 1990, Effect of pH on Formation, Proximate Composition and Rehydration Capacity of Winged Bean and Soybean Protein-Lipid Film. *J. Food Sci.* 55(1) : 261 - 262.
- Slamet-Sudarmadji, Bambang-Haryono dan Suhardi, 1984, *Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta.
- Sri-Kuntijati-Haryono, 1992, Stabilitas Hasil Beberapa Nomer Contoh Terpilih Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L(DC)). *J. Horticultura* 2 : 8 - 15.
- Stuchell, Y.M. and J.M. Krochta, 1994, Enzymatic Treatments and Thermal Effects on Edible Soy Protein Films, *J. Food Sci.* 59(6) : 1332 - 1337.
- Vigdorth V.L. and H.R. Ball, Jr., 1988, Relationship of Disulfide Bond Formation to Altered Rheological Properties of Oleic Acid Modified Egg White, *J. Food Sci.* 53(2) : 603 - 608, 640.